Aus der Abteilung für Gewebekultur im Theodor-Kocher-Institut der Universität Bern (Leiter: Prof. Dr. E. Hintzsche) und dem Röntgeninstitut des Inselspitals und der Universität Bern (Direktor: Prof. Dr. A. Zuppinger)

Untersuchungen an Fibroblastenkulturen aus Herzen röntgenbestrahlter junger Mäuse

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der Medizinischen Fakultät der Universität Bern

RIJKS-HERBARIUM BIBLIOTHEEK LEIDEN

vorgelegt von

Mariann Hess

von Wald (Zürich)

19 56

BASEL (Schweiz) S. KARGER NEW YORK

Von der Medizinischen Fakultät
auf Antrag des Herrn Prof. Dr. E. Hintzsche
zum Druck als Dissertation genehmigt

Bern, den 17. Dezember 1955

Der Dekan der Medizinischen Fakultät:
Prof. Dr. *W. Wilbrandt*

Erschienen in «Acta Anatomica» Vol. 27, No. 4, 1956

Hess, M.: Acta anat. *27*, 281–303, 1956

Aus der Abteilung für Gewebekultur im Theodor-Kocher-Institut der Universität Bern (Leiter: Prof. Dr. E. Hintzsche) und dem Röntgeninstitut des Inselspitals und der Universität Bern (Direktor: Prof. Dr. A. Zuppinger)

UNTERSUCHUNGEN AN FIBROBLASTENKULTUREN AUS HERZEN RÖNTGENBESTRAHLTER JUNGER MÄUSE

Von MARIANN HESS

Inhaltsübersicht

A. Einleitung 281
B. Untersuchungsmaterial und -methodik 283
C. Befunde 284
1. Einfluß verschiedener Dosierung und Einwirkungsdauer im Tier bei einzeitiger Bestrahlung 284
2. Einfluß verschiedener Dosierung und Zwischenzeit bei fraktionierter Bestrahlung 287
D. Auswertung der Wachstumskurven und Vergleich mit dem Schrifttum . . 289
1. Einzeitige Bestrahlung und Zeitwirkung 289
2. Fraktionierte Bestrahlung 294
3. Kulturwachstum und Alter der Tiere 295
E. Histologische Untersuchungen 296
F. Zusammenfassung 301
G. Literatur 302

A. Einleitung

Obgleich ein ausgedehntes Schrifttum über den Einfluß der Röntgenstrahlen auf tierische Gewebe und Organe vorliegt, hat sich doch noch keine einheitliche Auffassung vom Mechanismus der Strahlenwirkung durchsetzen können. Für einen solchen Deutungsversuch fehlen tatsächlich auch heute noch genügend sichere Grundlagen, denn die Beobachtungen und Befunde der einzelnen Forscher widersprechen einander nicht selten in hohem Grade. Selbst die Ergebnisse mikroskopischer Studien an röntgenbestrahlten Geweben und Organen lassen noch viele Fragen offen, wenn auch manche wertvolle Feststellung gelungen ist, wie z.B. die des gestörten Mitoseablaufes.

Methodisch läßt sich die histologische Auswirkung der Röntgenbestrahlung auf zwei Arten untersuchen: entweder indem man die Tiere bestrahlt und früher oder später bestimmte Organe oder Gewebe zur mikroskopischen Untersuchung dem Körper entnimmt, oder indem man zunächst Gewebekulturen anlegt, diese bestrahlt und dann weiter beobachtet.

Die Bestrahlung *in vivo* wurde hauptsächlich im Hinblick auf die Schädigung der Mitosetätigkeit vorgenommen. Ergebnisse solcher Untersuchungen werden, soweit sie für die vorliegende Arbeit wichtig sind, bei der Besprechung der neuen Befunde angeführt. Bei dieser Arbeitsweise ist von Nachteil, daß man nur Zustandsbilder gewinnt. Man muß also ganze Zeit- oder Dosisserien untersuchen, um den Ablauf der Erscheinungen rekonstruieren zu können. Hinderlich ist weiterhin, daß bei Anwendung dieser Methode auf Embryonen der Bestrahlungseffekt von anderen Vorgängen, z.B. denen der Differenzierung oder der verschiedenen Wachstumsintensität überlagert wird.

Andere histologische Veränderungen als die des Mitoseablaufes wurden seltener untersucht. Ausführlich berichtete einzig *Bloom* [1948] über mikroskopische Beobachtungen an verschiedenen Tierarten nach Röntgenbestrahlung. Er wählte dafür die Dosis, der innerhalb von 30 Tagen 50 % der Tiere erlagen (LD 50/30 Tg.); sie beträgt nach seinen Angaben für Mäuse 515–530 r. Bei diesen Studien konnte er an vielen Organen, darunter auch dem Herzen, keine histologischen Veränderungen im Schnittpräparat nachweisen.

Bestrahlungen von Geweben *in vitro* haben den Vorteil, daß man die eintretenden Veränderungen fortlaufend verfolgen und gegebenenfalls auch im Zeitrafferfilm festhalten kann. Ehe von den interessanten Ergebnissen solcher Untersuchungen berichtet wird, ist jedoch auch hier auf gewisse technische Schwierigkeiten hinzuweisen.

Deckglaskulturen von Fibroblasten wachsen ohne Umpflanzung nur während 2–4 Tagen, wobei man schon vom 3. Tag an mit Degenerationserscheinungen rechnen muß. Die Züchtung in *Carrel*flaschen ermöglicht zwar ungestörtes Kulturwachstum während längerer Zeit, sie ist aber für die histologische Untersuchung ungünstig. Dies veranlaßte die meisten Forscher, nur kurzfristige Versuche durchzuführen, wobei wiederum die Strahlenschädigung der Mitosetätigkeit das am meisten bearbeitete Gebiet war. Die Ergebnisse derartiger Untersuchungen unterscheiden sich weder qualitativ noch quantitativ von denen der Versuche in vivo.

Anders liegen die Verhältnisse, wenn das Flächenwachstum der bestrahlten Kulturen verfolgt wird. Schon *Krontowski* [1926] stellte fest, daß das Größenwachstum von Gewebekulturen auch nach 6–7 HED wenig beeinträchtigt war. Eine ausführliche Arbeit von *Faber* [1935] über die Strahlenwirkung auf Fibroblastenkulturen von embryonalen Hühnerherzen ergab eine Latenz des Strahleneffekts von ca. 24 Std., dann bei Dosen zwischen 400 und 1200 r Wachstumshemmung und nachfolgende Wiedererholung der Kulturen. Höhere Dosen (bis 6400 r) bewirkten Absterben der Kulturen, solche unter 400 r keine signifikante Wachstumshemmung im Verlauf der 4tägigen Beobachtungszeit. Will man das Auswachsen von Fibroblasten aus dem Mutterstück durch Bestrahlung ganz verhindern, so sind nach *Goldfeder* [1940] Dosen von ca. 150 000 r nötig. Solche Befunde zeigen deutlich, daß sich Bestrahlungen in vivo und in vitro nicht ohne weiteres vergleichen lassen.

Nur wenige Autoren haben die beiden erwähnten Methoden kombiniert. *Krontowski* [1926] und im Anschluß daran *Schubert* [1927] bestrahlten Hühner-

embryonen in ovo und explantierten dann verschiedene Gewebe. Sie erhielten bei Sofortexplantation nach 5000 r innerhalb der 3 bis 4tägigen Beobachtungszeit keine Wachstumshemmung. Erfolgte die Explantation 1 Std. nach der Bestrahlung (aus dem abgestorbenen Embryo!), so erzielten sie dasselbe Resultat; 2 Std. nach der Bestrahlung ergab sich eine gewisse Wachstumshemmung, bei Auspflanzung 3 Std. nach der Bestrahlung blieb jegliche Wachstumserscheinung an den Kulturen aus. Die Nachteile dieser Versuchsanordnung sind evident: einmal die unphysiologisch hohen Strahlendosen, die schon nach einer Stunde das Absterben des Embryo bewirkten und dadurch die Versuche zeitlich sehr einschränkten, dann die nur kurze Beobachtungsdauer der Kulturen von 3–4 Tagen, und nicht zuletzt die Verwendung einer Tiergattung, welche Schlüsse auf das menschliche Gewebe – und darum geht es ja letztlich bei allen diesen Versuchen – nur bedingt zuläßt. Dennoch ist die Grundidee dieser Versuche – Bestrahlung in vivo und Beobachtung in vitro – sehr einleuchtend.

Sicher kommt man den bei der Röntgentherapie vorliegenden Bedingungen näher, wenn man die Röntgenstrahlen auf Gewebe im Tier und nicht auf künstlich gezüchtete Gewebe einwirken läßt. Das erweisen ja auch die erheblichen Unterschiede der Dosierung, die zur Erzielung des gleichen Effektes bei Versuchen in vivo und in vitro nötig sind. Andererseits reicht die rein histologische Untersuchung nicht aus, um die Strahlenwirkung kleiner Dosen zu erfassen. Dagegen ermöglichen Gewebekulturen, die mit moderner Technik (z. B. der Röhrenroller-Methode) längere Zeit gehalten werden, auch kleine Effekte nachzuweisen; sie liefern zudem bedeutend mehr Untersuchungsmaterial, das auch eine statistische Auswertung zuläßt. Man kann auf diese Weise mit Dosierungen arbeiten, die die Tiere nicht letal schädigen und somit längere Beobachtungen des Strahleneffektes erlauben. Aufgabe der nachstehenden Untersuchungen ist es also, zu verfolgen, welche Befunde an Gewebekulturen von Herzfibroblasten erhoben werden können, deren Mutterstücke jungen Mäusen verschiedene Zeit nach der Bestrahlung entnommen wurden. Dabei war das eigentliche Ziel der Arbeit darauf gerichtet, festzustellen, welche Erscheinungen unterschiedliche Strahlendosierung und Einwirkungsdauer im Organismus hervorrufen, und wie sich die geänderte Vitalität in den Gewebekulturen auswirkt.

B. Untersuchungsmaterial und -methodik

Als Untersuchungsmaterial dienten juvenile weiße Mäuse, die im Alter von 5–7 Tagen im Röntgeninstitut der Universität und des Inselspitals Bern (Dir. Prof. Dr. med. A. Zuppinger) einer Totalkörperbestrahlung unterworfen wurden[1]. Dafür stand ein Pickertherapiegerät unter folgenden Bedingungen zur Verfügung: 250 kV, 0,5 mm Cu (1,1 mm HWS), 15 mA, Fokusabstand 30 cm. Die Bestrahlungsdauer betrug für 1000 r 5 Min. 41 Sek. Versuchs- und Kontrolltiere jeder Serie stammten aus demselben Wurf, sie wurden bis zur Auspflanzung beim Muttertier belassen.

In Abständen von 1 bis 11 Tagen nach der Bestrahlung wurden gleichviele Herzstücke von Versuchs- und Kontrolltieren mittels der Röhrenroller-Methode in der Modifikation von *Hintzsche* [1954] explantiert. Die Auspflanzung der Mutterstücke auf die Glimmerplättchen erfolgte mit Hühnerplasma und Hühnerembryonal-

[1] Die Bestrahlungen wurden ermöglicht durch Kredite der Schweizerischen Kommission für Atomenergie.

extrakt (1 : 3 mit Tyrodelösung von pH 7,3 verdünnt). Als Nährlösung diente ein Gemisch aus einem Teil Extrakt von 12 bis 13 Tage alten Hühnerembryonen (1 : 5 mit Tryodelösung verdünnt), einem Teil Pferdeserum und 3 Teilen Tyrodelösung unter Beigabe von ca. 50 I.E. Penicillin (reines Na-Salz in aq. bidest. gelöst) pro ml. Diese Lösung wurde mit n/10 HCl auf pH 7,3 eingestellt und alle 2–3 Tage gewechselt. Die im Röhrenroller-Brutschrank bei 37° C gehaltenen Kulturen wuchsen so 12–16 Tage lang, ohne daß eine Umpflanzung nötig war.

Die Auswertung der Kulturen geschah folgendermaßen: Alle Mutterstücke wurden am Tage ihrer Explantation in den Umrissen gezeichnet. Am 4., 8., 12. und 16. Tag nach der Explantation wurden je 3 Glimmerplättchen, jedes mit 4–5 Kulturen, verschiedenen Versuchs- und Kontrollröhrchen entnommen (zum Ausgleich eventueller Wachstumsunterschiede in den einzelnen Röhrchen), in *Carnoy*scher Lösung fixiert, mit saurem Haemalaun gefärbt und in üblicher Weise in Kanadabalsam eingeschlossen. Dabei wurde darauf geachtet, daß für jede Fixationsgruppe einer Versuchsreihe die Summe der Mutterstückgrößen möglichst gleich war, da diese einen bedeutenden Einfluß auf das Wachstum von Fibroblastenkulturen hat (*Hintzsche* [1954]). Die Umrisse der fixierten Kulturen wurden bei gleicher Vergrößerung wie die der Mutterstücke gezeichnet und die Flächen planimetriert. Durch die Relation $\frac{\text{Gesamtgröße} - \text{Mutterstück}}{\text{Mutterstück}}$ wurde der Zuwachsindex berechnet und zum Ausgleich der individuellen Variabilität der Mittelwert jeder Fixationsgruppe von 12 bis 15 Kulturen bestimmt. Diese Mittelwerte dienen in der folgenden Beschreibung der Befunde als Ausdruck der Gewebsvitalität nach der betreffenden Strahlendosis und Einwirkungsdauer. Bei der beschriebenen Versuchsordnung lassen sich die Ergebnisse der Experimente eigentlich nur mit denen der zugehörigen Kontrollen vergleichen. Um trotzdem die verschiedenen Auspflanzungen zueinander in Beziehung bringen zu können, wurde für jede Fixationsgruppe der Mittelwert der Kontrollen = 100 gesetzt und der entsprechende Wert der Versuchskulturen in % davon angegeben.

Zur weiteren Wertung des Strahlenschadens wurde ferner die Mitosezahl in den fixierten Versuchs- und Kontrollkulturen verglichen.

C. Befunde

1. Einfluß verschiedener Dosierung und Einwirkungsdauer im Tier bei einzeitiger Bestrahlung

3000 r war die höchste verwendete Strahlendosis. Die Tiere überlebten sie in der Regel nur um 6 Tage. Auspflanzungen erfolgten daher am 1., 3. und 5. Tag nach der Bestrahlung. Wie Abb. 1 zeigt, haben die Wachstumskurven der Kontrollen die übliche S-Form. Erste Wachstumserscheinungen fanden sich ca. 36 Std. nach der Explantation, die höchste Wachstumsintensität ergab sich für die Zeit vom 4. bis zum 8. Tag nach der Auspflanzung. Bei den Versuchskulturen war das Auswachsen etwas verzögert und im ganzen stark verringert. Besonders auffällig war die mit der Vergrößerung

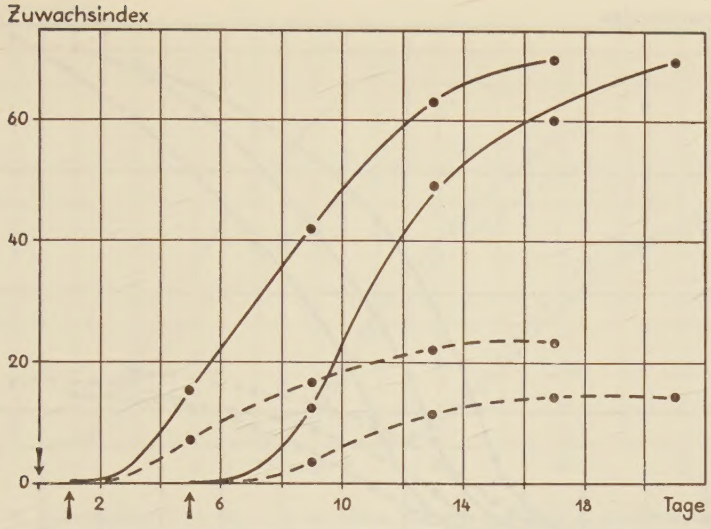

Abb. 1. Bestrahlung (↓) von 5 Tage alten Mäusen mit 3000 r. Explantation (↑) am 1. und 5. Tag nach der Bestrahlung. —— = Kontrollkulturen, - - - - = Versuchskulturen. Zu beachten ist die starke Wachstumshemmung der Versuchskulturen, die von der ersten bis zur zweiten Auspflanzung noch zunimmt.

des Intervalles zwischen Bestrahlung und Explantation abnehmende Wachstumsintensität der Versuchskulturen. Ihre Werte liegen für die einzelnen Fixationspunkte bei der 1. Auspflanzung zwischen 46 und 34%, bei der zweiten zwischen 40 und 24% und bei der letzten zwischen 28 und 20% der zugehörigen Kontrollen.

2000 r wurden von den Tieren bis zu 6 Tagen ertragen. Bezüglich der Wachstumskurven wiederholte sich das für 3000 r beschriebene Bild. In der Auspflanzung nach 3 Tagen erreichte das Wachstum ca. 40%, in derjenigen nach 5 Tagen ca. 30% der Kontrollen.

Bestrahlte man die Tiere mit 1000 r, so zeigten die Auspflanzungen vom 3., 5. und 7. Tag nach der Bestrahlung ungefähr gleiches Wachstum der Versuchskulturen (vgl. Abb. 2), nämlich 34–28% der Kontrollen nach 16tägiger Kulturdauer. Die zunehmende Einwirkungszeit führte also nicht mehr zu wesentlichen Wachstumsunterschieden.

Bestrahlung mit 500 r ergab für zwei Versuchsreihen etwas verschiedene Resultate. In der ersten betrugen die Zuwachswerte für die Auspflanzung 3 Tage nach der Bestrahlung 56–42% der Kontrollen, für die Auspflanzung 7 Tage nach der Bestrahlung 75–57%, also eine Besserung der relativen Wachstumsintensität bei

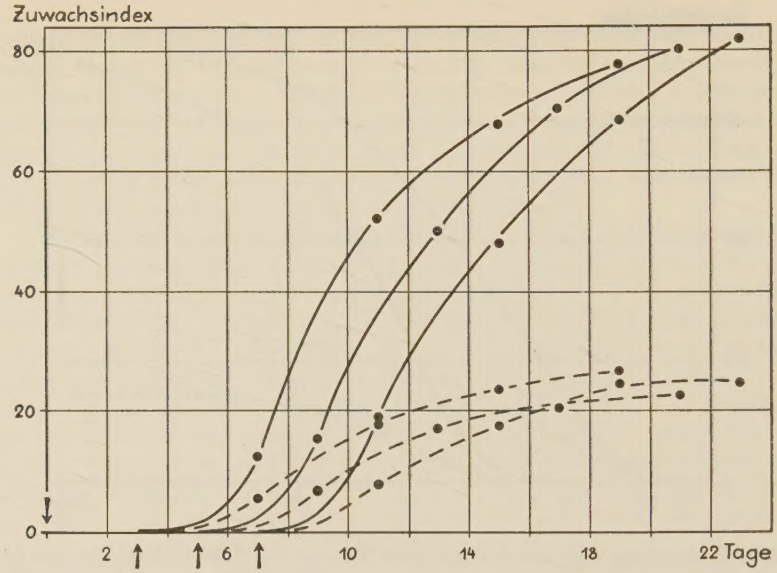

Abb. 2. Bestrahlung (↓) von 5 Tage alten Mäusen mit 1000 r. Explantation (↑) am 3., 5. und 7. Tag nach der Bestrahlung. —— = Kontrollkulturen, – – – – = Versuchskulturen. Annähernd gleich starke Wachstumshemmung in den Versuchskulturen aller Auspflanzungsgruppen.

größerem Abstand von der Bestrahlung. Eine zweite Reihe zeigte 59–46% Wachstum in der Auspflanzung nach 3 Tagen gegenüber 46–36% Wachstum, wenn man 7 Tage wartete, d.h. eine Abnahme der Wachstumsintensität im gleichen Zeitraum. Allerdings muß erwähnt werden, daß die Auspflanzung nach 7 Tagen im ersten Fall ein schlechteres, im zweiten ein besseres Kontrollwachstum aufwies als die übrigen Auspflanzungen dieser Reihe. Berechnete man die Durchschnittswerte der Zuwachsindizes aus beiden Reihen, so ergab sich bei ziemlich genau gleichem Wachstum der Kontrollkulturen auch gleiches Wachstum der Versuchskulturen mit 58–42% für beide Intervalle.

Erhalten die Tiere 250 r, so bestand nach unserer Erfahrung die Wahrscheinlichkeit, daß sie die Bestrahlung längere Zeit überlebten. Es ließ sich daher bei dieser Reihe an die Auspflanzungen nach 1, 3 und 7 Tagen noch eine solche nach 11 Tagen anschließen. Die Resultate zeigt Abb. 3. Aus Übersichtsgründen wurde die Kurve der 2. Explantation weggelassen. Ihr Wachstum hielt sich in der gleichen Größe wie das der ersten Auspflanzung, zwischen 76 und 69%. In der 3. Auspflanzung erreichten die Versuchskulturen 90 bis

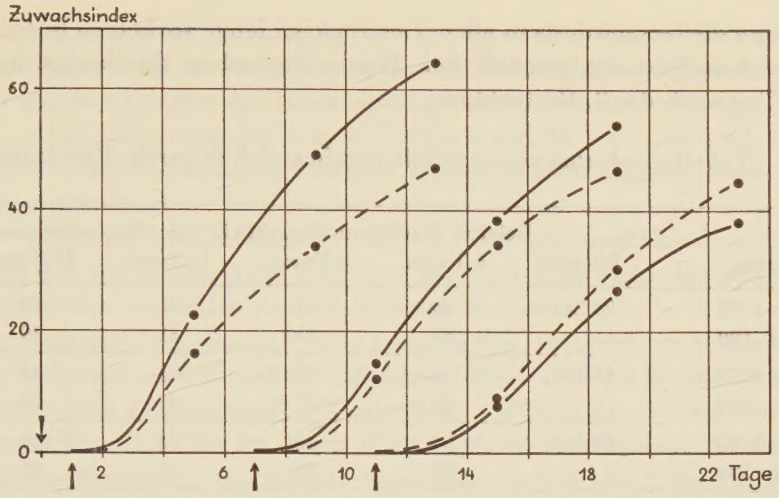

Abb. 3. Bestrahlung (↓) von 5 Tage alten Mäusen mit 250 r. Explantation (↑) am 1., 7. und 11. Tag nach der Bestrahlung. —— = Kontrollkulturen, – – – – = Versuchskulturen. Gegenüber der mäßigen Wachstumshemmung in der 1. Auspflanzung ist die der 2. nur unbedeutend; in der 3. Auspflanzung liegt eine unwesentliche Wachstumsförderung vor.

86% der Kontrollen, der Unterschied war kaum mehr von Bedeutung. Die 4. Auspflanzung zeigte gegenüber den Kontrollen sogar leicht vermehrtes Wachstum der Versuchskulturen (113–117%), doch liegen auch diese Differenzen noch im Rahmen der Fehlerbreite der Methodik.

125 r war die niedrigste applizierte Dosis. Auspflanzungen erfolgten 1, 3 und 7 Tage nach der Bestrahlung. Die Zuwachswerte der Versuchskulturen betrugen 86–105% der Kontrollwerte, in einer Fixation der mittleren Auspflanzung nur 80%. Bei diesen geringen Differenzen ließ sich die Abnahme der Wachstumsintensität nicht mehr sicher zahlenmäßig auswerten, da sie bei fast allen Fixationen innerhalb der Fehlergrenze der Methodik lag.

2. *Einfluß verschiedener Dosierung und Zwischenzeit bei fraktionierter Bestrahlung*

Um die Wirkungsweise wiederholter Strahlenapplikation zu prüfen, erhielten Mäuse je die halbe Dosis mit einem Intervall von 24 bzw. 48 Std., wobei zum Vergleich die Summe der Teildosen im Zeitpunkt der 2. Bestrahlung an Tiere des gleichen Wurfes verabfolgt wurde. Diese Anordnung wurde getroffen, um bis zur Explan-

tation die Gesamtdosis in allen Tieren gleich lange wirken zu lassen; die Auspflanzung geschah bei diesen Versuchen durchwegs am 3. Tag nach der 2. Bestrahlung.

Tabellarisch zusammengefaßt ergaben sich folgende Resultate:

Dosis r	Intervall	Relative Wachstumsintensität in % der Kontrollen nach 4 Tagen	8 Tagen	12 Tagen	16 Tagen
1 × 1000	24 Std.	49	42	30	39
2 × 500		24	24	31	39
1 × 1000	24 Std.	66	55	45	41
2 × 500		58	55	41	38
1 × 1000	48 Std.	54	40	32	42
2 × 500		23	33	28	25
1 × 500	24 Std.	73	74	72	57
2 × 250		79	78	71	60
1 × 250	24 Std.	80	90	93	62
2 × 125		78	86	84	73
1 × 250	48 Std.	66	70	76	75
2 × 125		97	81	79	78

Die erste Versuchsreihe mit 1000 r bzw. 2×500 r im Intervall von 24 Std. ergab für den 4. und den 8. Tag Kulturgrößen, die bei fraktionierter Bestrahlung bis zu 50% kleiner waren als bei einmaliger Applikation von 1000 r. Am 12. und 16. Tage war dagegen das Wachstum beider Kulturserien gegenüber den Kontrollen in gleichem Maße reduziert. Bei Wiederholung mit derselben Dosierung (2. Versuchsreihe der Tabelle) war der anfänglich hemmende Effekt mit 13% Differenz zwischen der einmalig und der zweizeitig bestrahlten Serie nicht mehr signifikant verschieden. Gegen Ende der Kulturperiode waren auch in diesem Versuch die Explantate beider bestrahlter Serien gegenüber den zugehörigen Kontrollen etwa gleich stark gehemmt.

Vergrößerte man das Intervall zwischen den beiden Teildosen auf 48 Std., so war wieder ein anfänglich größerer Unterschied beider Serien (41%) im Sinne stärkerer Hemmung des Wachstums von Kulturen aus zweizeitig bestrahlten Tieren feststellbar, der sich bis zum 12. Tage aber weitgehend verringerte. Wenn es so aussieht, als wäre am 16. Tag wieder eine größere Differenz beider Versuchsreihen vorhanden, so liegt das nur an den zufällig etwas kleineren

Mutterstücken der einmalig mit 1000 r bestrahlten Tiere; der Index wird dadurch relativ stark erhöht und ein Unterschied vorgetäuscht, der sich bei Analyse der Einzelwerte als nicht fundiert erweist.

Applizierte man 500 r bzw. 2×250 r mit 24 Std. Intervall, so verliefen beide Versuchsreihen mit kleinen Schwankungen ziemlich genau parallel.

Bei 250 r bzw. 2×125 r mit 24 Std. Intervall ergab sich dasselbe Bild, d.h. die Wirkung der Teildosen war statistisch nicht signifikant verschieden gegenüber der der Summationsdosis.

Gab man 250 r bzw. 2×125 r mit 48 Std. Intervall, so wuchsen die Kulturen aus den fraktioniert bestrahlten Tieren zu Beginn ohne Unterschied gegenüber den Kontrollen, während die der einzeitig bestrahlten Tiere die bei dieser Dosis auch sonst gefundene Wachstumsverminderung von Anfang an zeigten. Später trat jedoch auch bei den Kulturen aus fraktioniert bestrahlten Tieren eine Abnahme der Wachstumsindizes auf nahezu gleiche Werte wie bei 1×250 r ein.

D. Auswertung der Wachstumskurven und Vergleich mit dem Schrifttum

1. Einzeitige Bestrahlung und Zeitwirkung

In Abb. 4 wurde das Verhalten der relativen Wachstumsintensität im Verlauf der Züchtung bei verschiedener Dosierung zusammengestellt. Es handelt sich dabei um Durchschnittswerte aus mehreren gleichartigen Versuchsreihen, in denen die einzelnen Explantationsgruppen je höchstens um 15% voneinander abweichen. Als augenfälligster Befund ist die mit steigender Dosierung abnehmende Wachstumsintensität zu erwähnen. Betrachtet man die Einzelkurven dieser Abbildung, so fällt auf, daß sie sich bei den höheren Dosen im Verlauf der Kulturdauer weiter verringert, während bei 250 r zunächst eine kleine Steigerung auftritt. Dies läßt sich damit erklären, daß die Versuchskulturen durchschnittlich etwas später auswachsen als die Kontrollen. So ist anzunehmen, daß auch das Wachstumsmaximum der Kontroll- und Versuchskulturen nicht ganz zusammenfällt, d.h. es gibt einen Zeitpunkt, in dem die Kontrollen die maximale Wachstumsintensität bereits überschritten haben, während die Versuchskulturen sich noch in dieser Phase befinden, so daß sie vorübergehend aufholen. Dieses Phänomen ließ sich jedoch nur bei kleiner Dosierung erfassen, bei hoher waren die gewählten Abstände der Fixationen zu groß. Durch eine zufällig

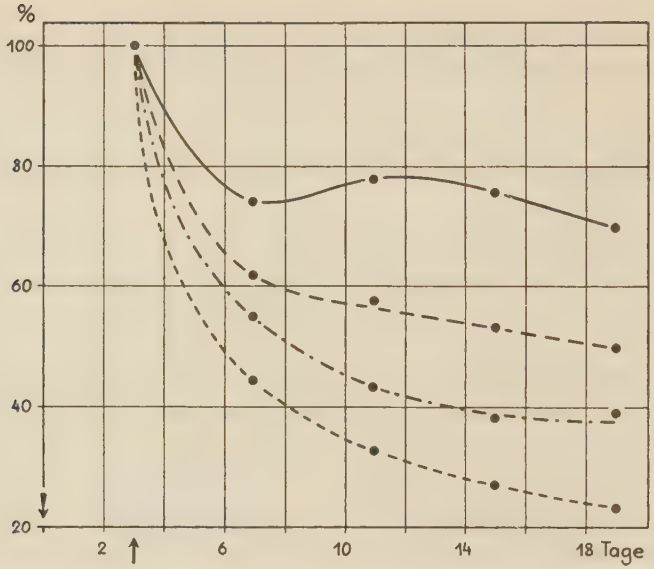

Abb. 4. Vergleich der relativen Wachstumsintensität bei verschiedenen Dosen: —— = 250 r, — — = 500 r, -·-·-· = 1000 r, – – – – = 3000 r. Bestrahlung (↓) von 5–6 Tage alten Mäusen, Explantation (↑) 3 Tage nach Bestrahlung. Die relative Wachstumsintensität ist dosisabhängig und im Verlauf der Kulturdauer bei 250 r schwankend, bei höheren Dosen von Anfang an leicht abnehmend.

nach 6 Tagen vorgenommene Fixation bei einer mit 3000 r bestrahlten Versuchsreihe konnte jedoch diese vorübergehende Zunahme der relativen Wachstumsintensität auch festgestellt werden.

Die Kurven von Abb. 4 zeigen ferner, daß die nach 4 Tagen bestimmte relative Wachstumsintensität im Maximum um 25% höher ist als diejenige nach 16 Tagen, in manchen Kurven war die Differenz noch geringer oder die Zahlen lagen von Anfang an in der gleichen Größenordnung wie die Endwerte. Auch wenn man die Kulturen umpflanzte und weitere 16 Tage beobachtete, hielt sich die relative Wachstumsintensität der Versuchskulturen in denselben Grenzen; es trat keine wesentliche Veränderung des einmal erreichten Schädigungsgrades auf. Jede Auspflanzungsgruppe schien vielmehr Ausdruck des Zustandes zu sein, in dem sich das Herzgewebe des betreffenden Tieres zur Zeit der Explantation befand. Daher wäre es auch nicht sinnvoll gewesen, bei allen Kulturen eine längere Beobachtungsdauer einzuhalten.

Zum Verständnis der Versuche mit verschiedenem Intervall zwischen Bestrahlung und Explantation ist es nötig, sich anhand

der Literatur über den zeitlichen Ablauf des Strahleneffektes in Tieren zu orientieren. *Alberti* und *Politzer* [1924] unterschieden Primäreffekt, mitosefreies Intervall und Sekundäreffekt nach Befunden an der Cornea von Salamanderlarven. Sie fanden dabei die Dauer des Primäreffektes unabhängig, diejenige des mitosefreien Intervalls und des Sekundäreffektes jedoch abhängig von der Strahlendosis. Ihre Versuche erstreckten sich über 1–2 Wochen. *Langendorff* [1943] untersuchte dasselbe Material, dehnte aber seine Versuche über 50 Tage aus. Nach dieser Zeit fand er bei einer Dosis von 150 r wieder normale Mitosezahlen. Je älter die verwendeten Tiere waren, desto rascher lief der Strahleneffekt ab. In einer Arbeit von *Spear* und *Glücksmann* [1938] werden ähnliche Verhältnisse bei Kaulquappen beschrieben. Zu erwähnen sind Beobachtungen von *Alberti* und *Politzer* [1926], die die Wirkung von Röntgenstrahlen auf das Amnion von trächtigen Mäusen untersuchten. Sie fanden 30 Min. nach der Bestrahlung die Mitosen im Primäreffekt, nach 2 Std. keine Mitosen und nach 12 Std. Erscheinungen des Sekundäreffektes, also bedeutend kürzere Zeiten als bei Kaltblütern. Versuche von *Tansley*, *Spear* und *Glücksmann* [1937] an der Retina von 2tägigen Ratten bestätigten diese Befunde. Sie stellten bei Dosen von 20 bis 1200 r Primäreffekt, mitosefreies Intervall und Beginn des Sekundäreffektes in den ersten 6 Stunden nach der Bestrahlung fest; nur bei kleinen Dosen war die Mitosetätigkeit am Ende der 3tägigen Beobachtungszeit wieder normal.

Für die hier beschriebenen Versuche ist also anzunehmen, daß alle Explantationen schon in der Phase der Sekundäreffekte erfolgten. Die Variation des Intervalles zwischen Bestrahlung und Auspflanzung wirkte sich für die verschiedenen Dosen unterschiedlich aus.

Bei den höchsten Dosen von 3000 und 2000 r wurde die Wachstumsintensität der Versuchskulturen immer geringer, je länger man mit der Auspflanzung zuwartete. Das Herzgewebe war so geschädigt, daß es sich nicht mehr erholen konnte, sondern ständig an Vitalität abnahm. Dies zeigte sich in diesen Versuchsreihen auch im äußeren Aspekt der Tiere, welche in Entwicklung, Behaarung und Gewicht immer mehr hinter den Kontrollen zurückblieben. Während aber die Tiere nach einer Dosis von 2000 bis 3000 r den 6. Tag in der Regel nicht überlebten, wuchsen die Kulturen von solchen Tieren, die z.B. am 5. Tag nach der Bestrahlung ausgepflanzt waren, noch während der ganzen Versuchsdauer von 12 bis 16 Tagen. Dies weist

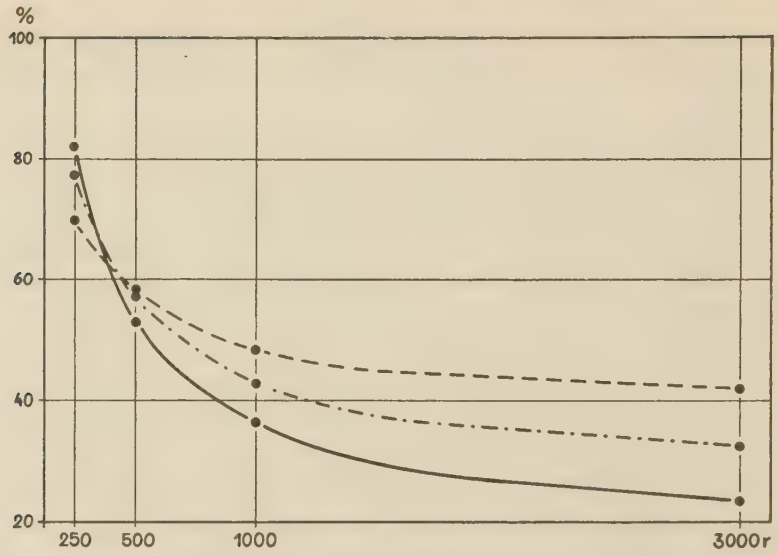

Abb. 5. Vergleich der relativen Wachstumsintensität am 8. Kulturtag bei verschiedener Einwirkungsdauer im Tier. Bestrahlung von 5–6 Tage alten Mäusen mit 250–3000 r. Explantation: – – – – = 1 Tag nach Bestrahlung, –·–·– = 3 Tage nach Bestrahlung, —— = 5–7 Tage nach Bestrahlung. Mit steigender Einwirkungsdauer im Tier ist die relative Wachstumsintensität zunehmend bei niedriger, abnehmend bei hoher Dosierung.

wiederum darauf hin, daß der Strahleneffekt, der hier im Tier mit der Zeit eine Steigerung erfährt, in der Kultur unverändert bleibt.

Bestrahlung mit 1000 r ergab in den Auspflanzungen 3–7 Tage nach der Applikation ungefähr gleiche Größenzunahme der Versuchskulturen. Die Durchschnittswerte der Wachstumsintensität nach 8tägiger Kulturdauer, berechnet aus allen Auspflanzungen dieser Dosis, lassen die Tendenz zur stärkeren Hemmung in den späteren Explantationen noch deutlich erkennen (vgl. Abb. 5). Man kann annehmen, daß auch diese Dosis das Herzgewebe letal schädigt.

Bei 500 r ergaben sich bei Wiederholung des Experimentes verschiedene Resultate: in der einen Reihe wuchsen die später ausgepflanzten Versuchskulturen eher schlechter als die frühen, in der anderen waren die Verhältnisse umgekehrt. Es ist interessant, daß von *Patt* und *Brues* [1954] die Dosis von 400 bis 600 r als LD 50/30 Tg. für Mäuse angegeben wird, d.h. als diejenige Dosis, bei der 50% der Tiere in 30 Tagen eingehen. Unsere Ergebnisse bei 500 r könnte man somit dahin deuten, daß die Strahlenmenge einmal einen etwas resistenteren Wurf, das andere Mal einen schwächeren getroffen

hat, oder daß das für die letzte Auspflanzung verfügbare Herzmaterial im einen Fall von nicht letal, im andern aber von letal geschädigten Tieren stammte.

Daß bei einer bestimmten Dosis eine Schädigung auftritt, die mit der Zeit weder zu- noch abnimmt, sondern sich unverändert erhält, ist nicht zu erwarten; Gewebekulturen reagieren auf Bestrahlung entweder mit Tod oder mit Erholung, wie dies schon *Laser* [1930] und *Faber* [1935] betont haben.

Für die Dosis von 250 r ist nach dem vorhergehend Gesagten anzunehmen, daß die Tiere sie überstehen und sich früher oder später vom Strahleneinfluß erholen. Um eventuelle derartige Effekte nach Möglichkeit zu erfassen, wurde bei dieser Reihe noch eine spätere Auspflanzung (11 Tage nach der Bestrahlung) vorgenommen. Die Vermutung bestätigte sich, denn die Versuchskulturen waren mit zunehmendem Abstand zwischen Bestrahlung und Explantation weniger geschädigt. Dieser Erholungseffekt kommt aber nur im Organismus und nicht in den Gewebekulturen zustande: nach 3tägiger Einwirkung im Tier und 12tägiger Züchtung betrug der durchschnittliche Zuwachsindex der Versuchskulturen 69% von dem der zugehörigen Kontrollen, nach 11tägiger Einwirkung und 4tägiger Züchtung aber 115%. In beiden Fällen lagen zwischen Bestrahlung und der Fixation 15 Tage. Hier sieht man also noch einmal, daß die in vivo eingetretenen Veränderungen des Strahleneffektes während des gleichen Zeitraumes in vitro nicht zu beobachten sind.

Das bessere Wachstum der Versuchskulturen von 13–17% in der letzten Auspflanzung dieser Reihe ist nicht als echte Förderung aufzufassen, was mit den Ansichten der meisten Autoren übereinstimmt. Das Resultat der erwähnten Auspflanzung ist nur dahin zu deuten, daß die Wachstumshemmung in den frühen Auspflanzungen dieser Serie hier sicher nicht mehr besteht, das Herzgewebe sich also vom Strahleninsult erholt hat.

Ergab sich bei hohen Strahlendosen eine gewisse Parallelität zwischen dem Allgemeinzustand des Tieres und dem Schädigungsgrad in den Fibroblastenkulturen aus dem Herzen, so wäre es doch falsch, daraus zu schließen, daß diese Explantate einfach den Allgemeinzustand der Tiere ausdrücken. Gerade bei diesem Versuch zeigte sich nämlich, daß sich die Versuchstiere 1 und 3 Tage nach der Bestrahlung äußerlich von den Kontrolltieren nicht unterschieden; trotzdem erwies sich die Hemmung in den Kulturen als

beträchtlich. Nach 7 Tagen waren die Versuchstiere jedoch deutlich schlechter entwickelt als die gleichaltrigen Kontrolltiere; in dieser Serie war aber die Hemmung in den Kulturen nur noch etwa halb so groß. Zudem zeigten Versuche über die Röntgenschädigung des Epithels der Nierenpapille (*Sommer* [1956]), daß dieses aus denselben Tieren stammende Gewebe auf gleichen Insult anders reagierte. Es darf somit angenommen werden, daß das Verhalten der Kulturen trotz der Ganzkörperbestrahlung Ausdruck einer speziellen Reaktion des Herzgewebes ist.

Bei Bestrahlung mit 125 r lagen die meisten Zuwachswerte der Versuchskulturen so nahe an denen der Kontrollen, daß sie in die Fehlergrenze der Methodik fielen. Immerhin waren sie mit Ausnahme von zweien alle niedriger als die Kontrollwerte (in einem Punkt der mittleren Auspflanzung sogar um 20%), so daß man annehmen kann, daß auch bei dieser Dosis das Herzgewebe eine gewisse Schädigung erfährt; nur ist sie mit der vorliegenden Versuchsanordnung nicht mehr eindeutig zu erfassen.

Die bis jetzt beschriebenen Ergebnisse der Dosen- und Zeitwirkung wurden in Abb. 5 zusammengestellt. Die Werte der relativen Wachstumsintensität nach 8tägiger Kulturdauer wurden darin aufgezeichnet und alle Punkte, bei denen gleiche Einwirkungsdauer der Strahlen im Tier vorlag, zu einer Kurve verbunden. Deutlich zeigt sich darin der Ablauf des Strahleneffektes im Tier, wie er durch die zeitlich gestaffelten Explantationen festgehalten wurde: Erholung bei niedrigen, zunehmende Schädigung bei hohen Dosen.

2. Fraktionierte Bestrahlung

Von verschiedenen Autoren wurde die Wirksamkeit einer fraktionierten Strahlenmenge gegenüber der einzeitig applizierten Gesamtdosis geprüft. Die in der Literatur vermerkten Resultate sind unterschiedlich. *Alberti* und *Politzer* [1924] sowie *Langendorff* [1943] fanden in Untersuchungen an der Cornea von Salamanderlarven eine stärkere Wirksamkeit der fraktionierten Applikationsweise, wenn sie die 2. Teildosis auf der Höhe des Sekundäreffektes verabreichten. Sein zeitlicher Ablauf hängt nach *Laser* [1930] von der Dosis und der Wachstumsintensität des betreffenden Gewebes ab. Den gleichen Effekt erzielten *Spear* [1932] an Fibroblastenkulturen aus Chorioidea und Sklera von Hühnerembryonen und *Schenker* [1954] an Epithelkulturen von der Nierenpapille junger

Mäuse. *Laser* [1930] und *Faber* [1935] konnten in Fibroblastenkulturen verschiedener Genese im besten Falle eine vollständige, unter anderen Bedingungen aber auch nur eine teilweise Kumulation der Teildosen beobachten. Diesen einander widersprechenden Angaben lassen sich gewisse klinische Beobachtungen zur Seite stellen, da bekannt ist, daß die fraktionierte Dosis vom malignen Tumor stärker kumuliert wird als von der gesunden Haut.

In meinen Versuchen ergaben die Zuwachswerte aus den Kulturen von ein- und zweizeitig bestrahlten Tieren keine markanten Unterschiede zugunsten der einen oder der anderen Reihe. Man kann also bei den angewandten Dosen von 250 bis 1000 r und bei Intervallen von 24 und 48 Std. von einer vollständigen Kumulation der fraktionierten Dosen sprechen. Immerhin legen die beschriebenen kleinen Differenzen den Gedanken nahe, daß bei systematischer Variation von Dosis und Intervall Unterschiede zu erzielen wären, und zwar in beiden in der Literatur erwähnten Richtungen: Vergrößerung des Intervalls bei kleinen Dosen könnte eine Erholung des Gewebes zwischen der 1. und 2. Teildosis erlauben, so daß die Kumulation unvollständig würde, wie dies in meinem Versuch mit 2×125 r in 48 Std. Intervall am Anfang der Züchtung zutage trat. Andrerseits wäre eine stärkere Wirksamkeit der fraktionierten Dosis durchaus zu erwarten, wenn es gelänge, die zweite Teildosis auf der Höhe des Sekundäreffektes im Herzgewebe zu applizieren. Hinweise auf derartige Möglichkeiten geben die Ergebnisse der Versuche mit 2×500 r. Ob der Effekt einer fraktionierten Dosis schwächer, gleich oder stärker als derjenige der einzeitigen Gesamtdosis ist, hängt nach diesen Ausführungen von Dosis und Intervall ab, und nicht zuletzt auch von der Gewebsart, wie wiederum die parallel durchgeführten Versuche am Epithel der Nierenpapille derselben Tiere zeigten (*Sommer* [1956]).

3. Kulturwachstum und Alter der Tiere

Bei der für die vorliegenden Versuche verwendeten Röhrenroller-Methode lassen sich streng genommen immer nur die Versuchs- mit den dazugehörigen Kontrollkulturen vergleichen, denn nur diese stehen während der ganzen Kulturdauer unter denselben Bedingungen. Schon für die zeitlich verschiedenen Explantationen derselben Versuchsreihe fallen die Wachstumskurven der Kontrollen oft etwas different aus, da sich das Alter von Plasma und Extrakt sowie kleine Unterschiede in der pH-Einstellung der Nährlösung

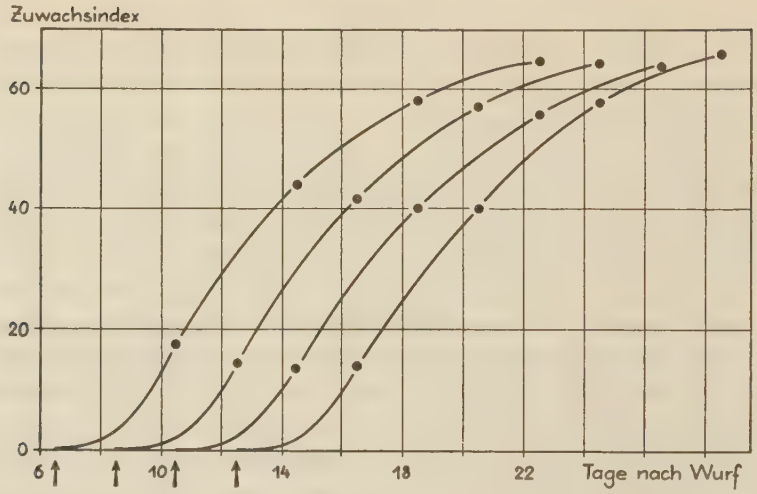

Abb. 6. Vergleich des Kontrollwachstums von verschieden alten Mäusen. Bei Explantation (↑) von 6–7, 8–9, 10–11 und 12–13 Tage alten Tieren ist das Wachstum der Fibroblastenkulturen gleich.

bemerkbar machen. Trotzdem erschien es von Interesse, durch Berechnung der Durchschnittswerte der Zuwachsindizes aller Kontrollen festzustellen, inwiefern sich das Alter der Tiere im Wachstum der Kulturen auswirkt. Es standen 4 Auspflanzungen von 6- bis 7tägigen, 11 von 8- bis 9tägigen, 8 von 10- bis 11tägigen und 6 von 12- bis 13tägigen Kontrolltieren zur Verfügung. *Bisceglie* und *Juhász* [1928] erwähnen einen 30%igen Wachstumsunterschied zwischen Kulturen von 10 und 17 Tage bebrüteten Hühnerembryonen. Abb. 6 zeigt aber, daß für unsere Versuche das zwischen 6 und 13 Tagen schwankende Alter der Tiere keine Rolle spielt, da alle Kontrollen im Durchschnitt gleich gewachsen sind. Der Abfall der Kontrollkulturen in Abb. 3 ist somit weniger als Alterseffekt denn als Folge von ungünstigeren Nährmilieubedingungen aufzufassen.

E. Histologische Untersuchungen

Das histologische Aussehen einer normalen Fibroblastenkultur ist oft genug beschrieben worden, so daß hier darauf verzichtet werden kann. Im mikroskopischen Bild der Kulturen aus bestrahlten Tieren zeigten sich ungefähr die gleichen Abweichungen von der Norm, wie sie für bestrahlte Kulturen wiederholt angegeben wurden. (*Gärtner* [1950]). Die Versuchskultur bestand aus locker und ganz regellos angeordneten Zellen von sehr unterschiedlicher Kerngröße

und war viel unschärfer begrenzt als die Kontrollkultur. Bei diesen fiel auf, daß das Mutterstück schon nach 8 Tagen stark aufgelockert und ausgebreitet war, während bei den Versuchskulturen der gleiche Effekt erst nach 12–16 Tagen eintrat. Diese Veränderungen sah man auch nach geringen Strahlendosen (250 r) in herabgesetztem Grad. Betrachtete man die einzelnen Zellen, so fand man zahlreiche Anomalien: Vielkernigkeit (bis zu 11 Kernen in einer Zelle), gelappte Kerne, Kernbrücken, Vakuolenbildung in den Kernen und vor allem Störungen der Kernteilung. Über all diese Erscheinungen liegt eine umfangreiche Literatur vor. Auf die Veränderungen des Primäreffektes, wie sie von zahlreichen Autoren und an mannigfaltigem Material beschrieben worden sind, kann in diesem Zusammenhang nicht eingegangen werden; denn bei meiner Versuchsanordnung ließ sich davon nichts mehr erfassen. Angaben über den frühen Sekundäreffekt in Fibroblastenkulturen liegen z. B. von *Perk* [1942/43] und *Lasnitzki* [1946] vor. Den Späteffekt festzuhalten war in ihren Versuchen nicht möglich, da Deckglaskulturen ohne Umpflanzung zu früh degenerieren. Die vorliegende Versuchsanordnung hingegen erlaubte, das Schicksal strahlengeschädigter Zellen während längerer Zeit zu verfolgen, ohne daß allgemein degenerative Veränderungen die Beurteilung erschwerten.

In meinem Versuchsmaterial ließen sich folgende qualitative Veränderungen der Mitose feststellen: 1. abgesprengte Chromosomen und daraus resultierende Teilkernbildung (vgl. Abb. 7 und 8) sowie 2. mangelhafte Trennung des Chromosomenmaterials in der Anaphase und daher Chromatinbrücken in der Telophase, die manchmal auch nach Rekonstruktion der Kerne bestehen blieben (vgl. Abb. 9 und 10). Im Gegensatz zu *Perk* [1942/43], der letzteres Phänomen für den Sekundäreffekt auch beschrieben hat, sah man nicht nur einzelne Chromosomen umfassende, sondern recht massive Verbindungen zwischen den Kernen. Dies galt bis jetzt als Eigentümlichkeit des Primäreffektes. Zwei Mitosen gaben Einblick in das weitere Schicksal von Teilkernen. In der einen (vgl. Abb. 11) fanden sich zwei Äquatorialplatten von ungefähr gleicher Größe und Chromosomenzahl (im Vergleich zu andern Teilungsbildern möglicherweise haploid) als Ausdruck gleichzeitiger Teilung zweier Kerne in derselben Zelle. In der andern (vgl. Abb. 12) sah man eine gut ausgebildete Äquatorialplatte und daneben 4 ebenfalls radiär angeordnete Einzelchromosomen; diese sind sicher nicht von der ersten abgesprengt, sondern entsprechen einem aus früherer pathologischer

Abb. 7

Abb. 8

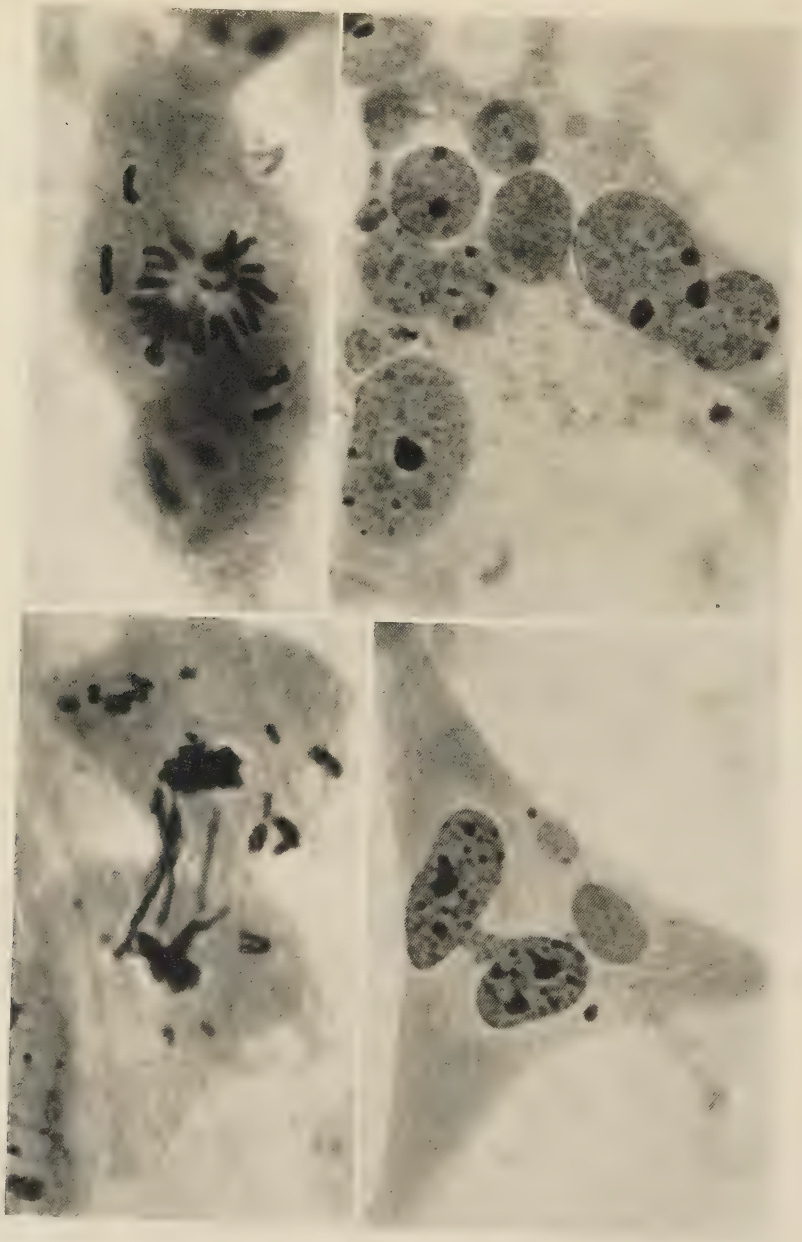

Abb. 9

Abb. 10

Teilung stammenden Teilkernchen, das sich parallel zum Hauptkern mitotisch teilt.

Zellen mit verklumpten Chromosomen ließen sich in den einzelnen Kulturen in wechselnder Zahl feststellen. Sie waren auch in Kontrollpräparaten manchmal zu beobachten, so daß dieser Befund nicht nur auf die Strahlenschädigung zurückzuführen ist, sondern auch auf allgemein degenerative Veränderungen, wie sie in jeder Kultur auftreten können.

Von Interesse schien, die Verminderung der Mitosezahl quantitativ zu vergleichen mit der Abnahme des Zuwachsindex. Es galt dafür zuerst abzuklären, nach welcher Kulturdauer die Mitosezahl am höchsten war. Dabei bestätigte sich eine Feststellung von *Cox* [1931] an Kulturen aus Chorioidea und Sklera von Hühnerembryonen, nach der das Maximum der Mitosetätigkeit und dasjenige des Größenwachstums nicht zusammenfallen. Meist fand sich nämlich eine Abnahme der Mitosezahl mit zunehmender Versuchsdauer. Sie verlief in Kontroll- und Versuchskulturen parallel, so daß die Proportion sich für die einzelnen Fixationsgruppen einer Auspflanzung nicht veränderte. Daher wurde für die quantitative Auswertung die Fixation nach 4 Tagen gewählt, welche auch den Vorteil hatte, daß in Versuchs- und Kontrollkulturen das Mutterstück noch scharf abzugrenzen war. Es wurden alle im Schleier sichtbaren Mitosen von gleichviel Versuchs- und Kontrollkulturen (je 10–12) gezählt und die absoluten Zahlen zueinander in Beziehung gesetzt. Die Summe der Mutterstückgrößen war für Versuch und Kontrolle ungefähr gleich und zudem identisch mit einem der Grundwerte für die Berechnung des Zuwachsindex. Durchwegs zeigten die Zahlen für verschiedene Dosen eine viel höhere Reduktion der Mitosen als des Zuwachsindex (vgl. Abb. 13). Für die 3 Tage nach der Bestrahlung

---

Abb. 7. Abgesprengte Chromosomen in der Metaphase eines Herzfibroblasten. 5tägige Maus mit 250 r bestrahlt, 3 Tage nach Bestrahlung explantiert, *Carnoy*-Fixation 4 Tage nach Explantation, Hämalaun. Vergr. 1600 ×. – *Abb. 8.* Teilkernbildung als Folge der Chromosomenabsprengung in einem Herzfibroblasten. 5tägige Maus mit 3000 r bestrahlt, 5 Tage nach Bestrahlung explantiert, *Carnoy*-Fixation 8 Tage nach Explantation, Hämalaun. Vergr. 1600 ×. – *Abb. 9.* Chromosomenbrücken in der Telophase eines Herzfibroblasten. 5tägige Maus mit 3000 r bestrahlt, 1 Tag nach Bestrahlung explantiert, *Carnoy*-Fixation 12 Tage nach Explantation, Hämalaun. Vergr. 1600 ×. – *Abb. 10.* Kernbrücke und Teilkerne in einem Herzfibroblasten. 5tägige Maus mit 3000 r bestrahlt, 3 Tage nach Bestrahlung explantiert, *Carnoy*-Fixation 12 Tage nach Explantation, Hämalaun. Vergr. 800 ×.

Abb. 11

Abb. 12

Abb. 11. Metaphase in einem zweikernigen Herzfibroblasten. 5tägige Maus mit 250 r bestrahlt, 11 Tage nach der Bestrahlung explantiert, *Carnoy*-Fixation 4 Tage nach Explantation, Hämalaun. Vergr. 1600×. – *Abb. 12.* Metaphase in einem zweikernigen Herzfibroblasten mit ungleich verteiltem Chromosomenmaterial. 5tägige Maus mit 250 r bestrahlt, 3 Tage nach Bestrahlung explantiert, *Carnoy*-Fixation 4 Tage nach Explantation, Hämalaun. Vergr. 1600×.

vorgenommenen Auspflanzungen war nach 4tägiger Kulturdauer die Mitosehemmung im Bereich von 250 bis 1000 r ziemlich genau doppelt so hoch wie die Zuwachshemmung. Bei 125 r betrug sie sogar 43%, obschon hier die Zuwachshemmung mit 13% nicht von Bedeutung war.

Aus dem obenerwähnten Vergleich von Mitosetätigkeit und Wachstumsintensität ging hervor, daß die Zellwanderung der maßgebende Faktor für die Form der Wachstumskurve ist. Dem kann man nun beifügen, daß offenbar letztere durch die Bestrahlung viel weniger geschädigt ist als die Teilungsfähigkeit der Zelle. Ferner macht dieses Resultat klar, daß auch für Spätwirkungen der Röntgenbestrahlung die Zellteilung ein empfindlicherer Gradmesser ist als andere Erscheinungen. Dafür liefern die Gewebekulturen reichliches und zur mikroskopischen Beurteilung gut geeignetes Material.

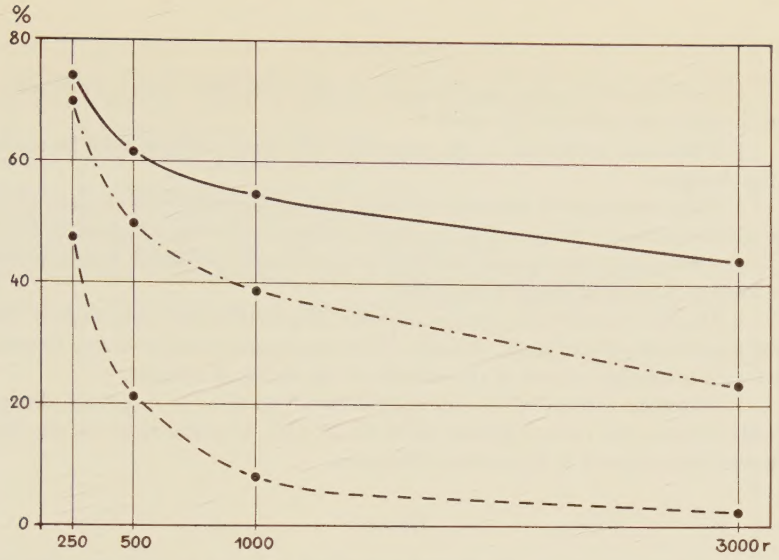

Abb. 13. Vergleich von relativer Wachstumsintensität und relativer Mitosehäufigkeit bei verschiedenen Dosen. —— = relative Wachstumsintensität bei Explantation 3 Tage nach Bestrahlung und Fixation 4 Tage nach Explantation. – – – – = relative Mitosehäufigkeit im selben Zeitpunkt. –·–·–·– = relative Wachstumsintensität 16 Tage nach Explantation. Die Mitosetätigkeit ist viel stärker reduziert als der Zuwachsindex.

Zusammenfassung

1. Untersucht wurden Fibroblastenkulturen aus Herzen röntgenbestrahlter juveniler weißer Mäuse (Dosierung: 125–3000 r).
2. Das Wachstum der Versuchskulturen nahm mit steigender Bestrahlungsdosis ab.
3. Verlängerung des Intervalles zwischen Bestrahlung und Explantation wirkt in aufeinanderfolgenden Auspflanzungen je nach der Dosis verschieden. Bei hoher Bestrahlungsdosis nimmt die Wachstumsintensität stetig ab, bei mittlerer Dosis bleibt das Maß der Hemmung ungefähr gleich, bei niedriger Dosis bessert sich das Wachstum der spät ausgepflanzten Kulturen sogar wieder.
4. Im Gegensatz dazu variierte die relative Wachstumsintensität der Versuchskulturen für alle Dosierungen während der ganzen Kulturdauer nur wenig. Der Absterbe- oder Erholungseffekt, der sich in den Geweben in vivo abspielte, war in den in vitro-Kulturen von bestrahlten Tieren nicht zu beobachten.
5. Fraktionierte Bestrahlung setzte nach 12–16 Tagen Kulturdauer die Wachstumsintensität in gleichem Maße herab wie die einzeitige Applikation der Gesamtdosis, obwohl anfänglich gewisse Unterschiede vorzuliegen schienen.
6. Unterschiedliches Alter der Tiere (6–13 Tage) hatte bei den vorliegenden Versuchen keinen Einfluß auf das Größenwachstum der Kulturen.
7. Die Mitosezahl war in den Versuchskulturen erheblich stärker reduziert als der Zuwachsindex, was darauf schließen läßt, daß die Zellteilung mehr geschädigt ist als die Zellwanderung.

Summary

1. Juvenile white mice were X-rayed (dosage 125–3000 r) and fibroblasts of their hearts were cultivated in vitro.

2. There was a decrease in the growth of the tissue cultures with increasing X-ray dosages.

3. When the interval between radiation and explantation was choosen longer the relative intensity of growth in successive culture series was retarded by larger doses. In using medium dosages the relative retardation remained approximately the same and by small doses it decreased.

4. On the contrary the relative intensity of growth varied only slightly with all dosages throughout the experiments. Both degeneration and recovery found in vivo were noticeably absent in the cultures of the radiated animals.

5. A certain dosage of X-rays applicated all at once or in partial dosages equally reduces the rate of growth after 12–16 days of cultivation; at the start however there seemed to be certain differences.

Résumé

Etude de cultures de fibroblastes provenant du cœur de souriceaux irradiés (125–3000 r). L'accroissement est d'autant plus faible que la dose de rayons est plus forte. Si l'intervalle entre l'irradiation et l'explantation augmente, l'intensité de croissance diminue au cours des passages si la dose de rayons est forte. L'intensité de croissance des cultures elles-mêmes ne varie que fort peu au cours du temps de culture, quelles que soient les doses de rayons. Les répercussions provoquées par l'irradiation sur les tissus (destruction, régénérescence) telles qu'on les observe in vivo, ne s'observent pas dans les cultures d'animaux irradiés. Une irradiation fractionnée diminue après 12–16 jours de culture l'intensité de croissance au même degré qu'une application unique de la dose totale, bien que tout d'abord certaines différences semblent survenir.

G. LITERATUR

Alberti, W. und *G. Politzer:* Fortschr. Röntgenstr. *32*, 56, 1924; Strahlentherapie *21*, 535, 1926.

Bisceglie, V. und *A. Juhász-Schäffer:* Die Gewebezüchtung in vitro. Springer, Berlin 1928.

Bloom, W.: Histopathology of irradiation from external and internal sources, in: National nuclear energy series IV, *22* 1, McGraw-Hill, New York 1948.

Cox, S. F.: Arch. exp. Zellforsch. *11*, 121, 1931.

Faber, B.: Röntgenbiologische Untersuchungen mit Gewebekulturen als Indikator. Med. Diss. Kopenhagen 1935.

Gärtner, H.: Strahlentherapie *82*, 539, 1950.

Goldfeder, A.: Radiology *35*, 210, 1940.

Hintzsche, E.: Z. mikr.-anat. Forsch. *61*, 66, 1954.

Krontowski, A. A.: Strahlentherapie *21*, 12, 1926.

Langendorff, H.: Strahlentherapie *72*, 505, 1943.

Laser, H.: Strahlentherapie *38*, 391, 1930.

Lasnitzki, I.: Brit. J. Radiol. *13*, 279, 1940; *19*, 250, 1946.

Patt, H.M. and *A.M. Brues:* The pathological physiology of radiation injury in the mammal. I. Physical and biological factors in radiation action, in: *Hollaender:* Radiation Biology I, Part. 2, McGraw-Hill, New York 1954.
Perk, P.: Z. Zellforsch. *32*, 1, 1942–1943.
Schenker, H.: Z. mikr.-anat. Forsch. *60*, 589, 1954.
Schubert, M.: Strahlentherapie *24*, 551, 1927.
Sommer, R.: Acta anat. 1956 (im Druck).
Spear, F.G.: Proc. Roy. Soc. Lond. *B 110*, 224, 1932.
Spear, F.G. and *A. Glücksmann:* Brit. J. Radiol. *11*, 128, 533, 1938.
Tansley, K., F.G. Spear and *A. Glücksmann:* Brit. J. Ophthal. *1937*, p. 273.

Eingegangen 22. August 1955